

3. Prosen D., Hatziloukas E., Schaad N. W., Panopoulos N. J. Specific detection of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* DNA in bean seed by polymerase chain reaction-based amplification of a phaseolotoxin gene region // *Phytopathology*. 1993. Vol. 83. P. 965–970.
4. A combined biological and enzymatic amplification (BIO-PCR) technique to detect *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* in bean seed extracts / N. W. Schaad, S. S. Cheong, S. Tamaki, E. Hatziloukas, N. J. Panopoulos // *Phytopathology*. 1995. Vol. 85. P. 243–248.
5. International Rules for Seed Testing. 7–023: Detection of *Pseudomonas savastanoi* pv. *phaseolicola* in *Phaseolus vulgaris* (bean) seed. Validated Seed Health Testing Methods. 2018.
6. D'Avila Denardin N., Agostini V. A. Detection and quantification of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* and its variant *fuscans* in common bean seeds. Departamento de Microbiologia e Fitopatologia, Universidade de Passo Fundo, Caixa Postal 611, 99001–970. Passo Fundo, RS, Brasil. 2013

УДК 578.85/.86+578.864

Ю. А. Шнейдер, О. Н. Морозова,  
Е. В. Каримова, И. П. Смирнова<sup>2</sup>

ФГБУ «Всероссийский центр карантина растений»,  
140150, Россия, Быково, ул. Пограничная, 32,  
yury.shneyder@mail.ru

<sup>2</sup>Медицинский факультет Медицинского института  
Российского университета дружбы народов,  
117198 Россия, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8/2

## МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСА МОЗАИКИ ПЕПИНО В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**Ключевые слова:** *Perino mosaic virus*, томат, ПЦР, ИФА.

Вирус мозаики пепино (*Perino mosaic virus*, *PerMV*), представитель семейства *Potexvirus*, вызывает снижение урожая и качество плодов томатов во всем мире. С момента первого обнаружения в 1980 г., *PerMV* широко распространился по всему миру. В 1999 г. он был впервые выявлен в Европе, а в настоящее время распространен в большинстве стран ЕОКЗР. В некоторых странах Европы вирусом заражено до 70% томатов закрытого грунта. Основные хозяева вируса – растения семейства пасленовые, главным образом томат и пепино. В настоящее время *PerMV* входит в список ограничено распространенных карантинных видов – А2 ЕОКЗР [1, 2].

Методы диагностики *PerMV* в настоящее время представлены достаточно широко. Для лабораторий доступны коммерческие тест-системы для ИФА (DSMZ (Германия), Neogen (Великобритания), Bioreba (Швейцария) и др.)

и ИХА (Bioreba (Швейцария), Agdia (США) и др.), а также опубликованы ряд статей с праймерами и зондами для классической ПЦР, ПЦР в реальном времени [4–6] и ОТ-LAMP [7].

В настоящее время различают 4 группы штаммов ПерМV, которые имеют генетическое сходство 78–95%: европейский (EU), перуанский (PE), чилийский (CH2) штаммы и штамм из США (US1).

В последние годы в лабораторию вирусологии ФГБУ «ВНИИКР» обращается все больше производителей и импортеров семян томата с целью определения наличия заражения. В связи с необходимостью и важностью данного вируса были отработаны и используются различные методы диагностики основанные на молекулярных методах диагностики [1–3].

В ходе визита в г. Харлем (Нидерланды) в 2015 г. специалистами лаборатории вирусологии на местном сельскохозяйственном рынке были приобретены несколько плодов томата черри с мраморностью. В связи с наличием характерных симптомов ПерМV, было проведено тестирование материала и подтверждено заражение вирусом. Изоляту был присвоен шифр коллекции TomH-1.

В дальнейшем было проведено секвенирование полных геномов изолятов TomH-1 (VNIKR) и изолята ПерМV PV-0716 (DSMZ) с помощью комплекта праймеров [7] и составлены полные геномы. Итоговая длина продуктов составила – 6315 и 6319 п.о. соответственно. Данные сиквенсы депонированы в Генбанк NCBI [3].

Было выяснено, что полученные сиквенсы изолятов имеют принадлежность к чилийской группе ПерМV (CH2).

Кроме этого, было изучено влияние планшетов для ИФА на чувствительность тест-системы ПерМV (Neogen). Были использованы планшеты трех производителей Thermo Scientific (Nunc), Corning Inc (Costar и Costar cell culture стерильные), Green BioResearch Greiner (традиционные и стрипованные) (все США). Определяли большую разницу между значениями экстинкции положительных и отрицательных образцов в течение времени (через 1, 2, 4, 24 часа после нанесения субстрата).

Было показано, что значение экстинкции всех образцов и контролей практически не отличается между планшетами разных производителей. Только стерильные планшеты Costar cell culture cluster имели заниженные примерно в 5–10 раз значения экстинкции. Однако лучшие результаты имели планшеты Nunc (Thermo Scientific) и Greiner (Green BioResearch).

### Список литературы

1. Шнейдер Ю. А., Приходько Ю. Н., Морозова О. Н., Живаева Т. С. Вирус мозаики пегино – опасный вирус томатов // Биоресурсы и вирусы : сб. докладов VII Международ. конф. Киев, Украина. 2013. С. 100.
2. Диагностика вируса мозаики пегино в Российской Федерации / Ю. А. Шнейдер, Ю. Н. Приходько, Ю. С. Панычева и др. / Молекулярная диагностика. : сб. трудов VIII Всерос. науч.-практич. конф. с междунар. участием Т. 2. М., 2014. С. 437–438.
3. Methods of diagnostic of Pepino mosaic virus in Russian Federation / Y. Shneyder, O. Morozova, M. Tikhomirova, E. Karimova, Y. Prikhodko. Abstracts of the V International Symposium on Tomato Diseases: Perspectives and Future Directions in Tomato Protection. Malaga, Spain. 2016. P. 91.

4. Simultaneous detection and identification of Pepino mosaic virus (PepMV) isolates by multiplex one-step RT-PCR // A. Alfaro-Fernandez, J.A. Sanchez-Navarro, M.C. Cebrian, et al. European Journal of Plant Pathology. 2009. Vol. 125. P. 143–158.
5. Pepino mosaic virus // OEPP/EPPO Bulletin 2013, T. 43 (1). P. 94–104.
6. Genetic structure of the population of Pepino mosaic virus infecting tomato crops in Spain / I. Pagán, M.C. Cordoba-Selles, L. Martinez-Priego et al. // Phytopathology. 2016. № 96. P. 274–279
7. *Ling K.-S., Li R. and Bledsoe M.* Pepino mosaic virus genotype shift in North America and development of a loop-mediated isothermal amplification for rapid genotype identification // Virology Journal. 2013. № 10. P. 117.